

PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : C07K 5/078, 5/083, 5/097, A61K 38/05, 38/06	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/67278
		(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 29. Dezember 1999 (29.12.99)
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/04382</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 24. Juni 1999 (24.06.99)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 198 28 113.7 24. Juni 1998 (24.06.98) DE</p> <p>(71) Anmelder (<i>für alle Bestimmungsstaaten ausser US</i>): PRO-BIODRUG GESELLSCHAFT FÜR ARZNEIMITTELFORSCHUNG MBH [DE/DE]; Weinbergweg 22, D-06120 Halle (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und</p> <p>(75) Erfinder/Anmelder (<i>nur für US</i>): DEMUTH, Hans-Ulrich [DE/DE]; Weinbergweg 23, D-06120 Halle (DE). HOFFMANN, Torsten [DE/DE]; Körnerstrasse 8, D-06114 Halle (DE). SCHLENZIG, Dagmar [DE/DE]; Hegelstrasse 12, D-06114 Halle (DE). MANHART, Susanne [DE/DE]; Rudolf-Haym-Strasse 21, D-06110 Halle (DE).</p> <p>(74) Anwälte: FORSTMAYER, Dietmar, G. usw.; Boeters & Bauer, Bereiteranger 15, D-81541 München (DE).</p>		
<p>(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i></p>		
<p>(54) Title: PRODRUGS OF DIPEPTIDYL PEPTIDASE IV INHIBITORS</p> <p>(54) Bezeichnung: PRODRUGS VON DP IV-INHIBITOREN</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention relates to prodrug compounds of inhibitors of dipeptidyl peptidase IV (DP IV). Said prodrug compounds comprise general formulas (A-B-C), whereby A represents an amino acid, B represents the chemical bond between A and C or an amino acid, and C represents a stable inhibitor of DP IV. Such prodrug compounds are used for treating altered glucose tolerance, glucosuria, hyperlipidemia, metabolic acidoses, diabetes mellitus, diabetic neuropathy, nephropathy, and secondary diseases in mammals caused by diabetes mellitus.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Die vorliegende Erfindung betrifft Prodrug-Verbindungen von Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV (DP IV), welche Prodrug-Verbindungen die allgemeine Formel A-B-C aufweisen, wobei A eine Aminosäure, B die chemische Bindung zwischen A und C oder eine Aminosäure und C ein stabiler Inhibitor von DP IV ist. Derartige Prodrug-Verbindungen werden zur Behandlung von beeinträchtigter Glukosetoleranz, Glukosurie, Hyperlipidämie, metabolischen Azidosen, Diabetes mellitus, diabetischer Neuropathie und Nephropathie sowie von durch Diabetes mellitus verursachten Folgeerkrankungen von Säugern verwendet.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Maurenianen	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Prodrugs von DP IV-Inhibitoren

Erfindungsgemäß werden Prodrug-Verbindungen von Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV (DP IV) bereitgestellt, welche Prodrug-Verbindungen die allgemeine Formel A-B-C aufweisen, wobei

A eine Aminosäure

B die chemische Bindung zwischen A und C oder eine Aminosäure, und

C ein stabiler Inhibitor von DP IV ist.

Es wurde gefunden, daß durch Verabreichung von Inhibitoren (Effektoren) der DP IV bzw. DP IV-analoger Enzymaktivität im Blut eines Säugers, durch deren damit verbundene, temporäre Aktivitätsreduktion, in kausaler Folge die endogenen (oder zusätzlich exogen verabreichten) insulinotropen Peptide Gastric Inhibitory Polypeptide 1-42 (GIP₁₋₄₂) und Glucagon-Like Peptide Amide-1 7-36 (GLP-1₇₋₃₆) (o.a. GLP-1₇₋₃₇ oder deren Analoga) durch DP IV- und DP IV-ähnliche Enzyme verminder abgebaut werden und damit die Konzentrationsabnahme dieser Peptidhormone bzw. ihrer Analoga verringert bzw. verzögert wird. Die durch die Wirkung von DP IV-Effektoren erzielte, erhöhte Stabilität der (endogen vorhandenen oder exogen zugeführten) Incretine oder ihrer Analoga, die damit vermehrt für die insulinotrope Stimulierung der Incretin-Rezeptoren der Langerhansschen Zellen im Pankreas zur Verfügung stehen, verändert u.a. die Wirksamkeit von körpereigenem Insulin, was eine Stimulierung des Kohlehydratstoffwechsels des behandelten Organismus nach sich zieht. Als Resultat sinkt der Blutzuckerspiegel unter die für Hyperglykämie charakteristi-

sche Glukosekonzentration im Serum des behandelten Organismus. Dadurch können mittels DP IV - Inhibitoren Stoffwechselanomalien wie Übergewicht, Glukosurie, Hyperlipidämie sowie mögliche schwere metabolische Azidosen, Diabetes mellitus, die eine Folge längerer, erhöhter Glukosekonzentrationen im Blut sind, verhindert bzw. gemildert werden [vgl. DE 196 16 486].

Mit Hilfe von DP IV - Inhibitoren kann auch das Eindringen von HIV in CD 26 (DP IV) positive Zellen experimentell verhindert werden [vergl. WAKSELMAN, M., NGUYEN, C., MAZALEYRAT, J.-P., CALLEBAUT, C., KRUST, B., HOVANESSIAN, A.G., Inhibition of HIV-1 infection f CD 26+ but not CD26- cells by a potent cyclopeptidic inhibitor of the DPP IV activity of CD 26. Abstract P 44 of the 24th European Peptide Symposium 1996].

Weiterhin wurde gefunden, daß DP IV neuroaktive Peptide wie Neuropeptid Y und CLIP in ihrer Aktivität modulieren kann [vergl. MENTLEIN, R., DAHMS, P., GRANDT, D., KRUGER, R., Proteolytic processing of neuropeptide Y and peptide YY by dipeptidyl peptidase IV. Regul. Pept. 49, 133 (1993); WETZEL, W., WAGNER, T., VOGEL, D., DEMUTH, H.-U., BALSCHUN, D., Effects of the CLIP fragment ACTH 20-24 on the duration of REM sleep episodes. Neuropeptides, 31, 41 (1997)].

Es ist die Aufgabe der vorliegenden Erfindung, Effektoren von DP IV bereitzustellen, die im Vergleich zu bekannten Inhibitoren eine gesteigerte Wirkung aufweisen und deren Wirkung zeitlich definiert eintritt.

Diese Aufgabe wird durch die Bereitstellung von Prodrug-Verbindungen von Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV (DP IV)

gelöst, welche Prodrug-Verbindungen die allgemeine Formel A-B-C aufweisen, wobei

A eine Aminosäure

B die chemische Bindung zwischen A und C oder eine Aminosäure, und

C ein stabiler Inhibitor von DP IV ist.

Überraschenderweise weisen derartige als Prodrugs maskierte Inhibitoren gegenüber nicht maskierten Inhibitoren eine erheblich gesteigerte Wirksamkeit auf: Werden identische Mengen von unmaskierten Inhibitoren der DP IV und von erfindungsgemäßen Prodrugverbindungen eingesetzt, so kommt es bei Wistaratten durch die Prodrug-Verbindungen zu einer Glukosetoleranzverbesserung von bis zu 75 %, siehe auch Tabelle 4.

Diese Verbesserung ist umso erstaunlicher, als gefunden wurde, daß unmaskierte Inhibitoren der DP IV zu 100 % aus dem Magen-Darmtrakt von Säugern resorbiert werden und in den vaskulären Bereich des Körpers eintreten. Es wäre also zu erwarten gewesen, daß Prodrug-Verbindungen, die normalerweise nur eine Zersetzung von oral verabreichten Verbindungen im Magen-Darmtrakt verhindern sollen, zu keiner Steigerung der Wirksamkeit der Inhibitoren führen würden. Es sei nur am Rande vermerkt, daß für einen Fachmann aufgrund dieser Tatsachen außerdem auch gar keine Veranlassung bestand, nach modifizierten Inhibitoren zu suchen, auch wenn Prodrug-Verbindungen an sich bereits bekannt waren, vgl. z.B. PCT/US 97/09421.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung werden Prodrug-Verbindungen eingesetzt, in denen B Prolin, Hydroxyprolin, Thiazolidincarbonsäure, Dehydroprolin,

Pipecolinsäure, Azetidincarbonsäure oder Aziridincarbonsäure ist, wobei Prolin und Hydroxyprolin besonders bevorzugt werden. Vorzugsweise stellt B eine Peptidbindung zwischen A und C dar oder ist über Peptidbindungen mit A und C verknüpft.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen weisen dabei insbesondere auch den Vorteil auf, daß die Inhibitoren der DP IV je nach individuellem Bedarf der Patienten freigesetzt werden:

Tritt eine erfindungsgemäße Prodrug-Verbindung mit einem DP IV-Molekül in Wechselwirkung, so wird sie durch das Enzym in die Gruppen A-B und den Inhibitor C gespalten. Der Inhibitor C wird das DP IV-Molekül inhibieren, so daß es keine weiteren Prodrug-Verbindungen mehr aufspalten kann. Liegen weitere DP IV-Moleküle vor, so kommt es so lange zur Spaltung von Prodrug-Verbindungen (wenn eine ausreichende Menge an Prodrug-Verbindungen verabreicht wurde), bis das letzte DP IV-Molekül inhibiert ist. Die übrigen Prodrug-Verbindungen werden nicht zersetzt und stellen somit so lange ein Inhibitordepot dar, bis die Konzentration an DP IV-Molekülen wieder ansteigt bzw. Inhibitormoleküle von der DP IV verdrängt werden bzw. Inhibitormoleküle eliminiert werden und es wiederum zu einer erneuten Spaltung der Prodrug-Verbindungen und somit zu einer Freisetzung von Inhibitoren kommt.

Die Erfindung weist also den weiteren Vorteil auf, daß jeder Organismus genau die Menge an Inhibitor freisetzen wird, die zur Inhibition der individuell in unterschiedlicher Menge vorliegenden DP IV notwendig ist. Liegt bei einem Patienten DP IV z.B. in hohen Konzentrationen vor, so wird eine große Menge an Inhibitor freigesetzt; liegt nur eine wenig erhöhte Konzentration an DP IV vor, so wird nur eine geringe Menge an Inhibitor freigesetzt.

Weiter werden erfindungsgemäß Prodrug-Verbindungen bevorzugt, in denen C ein Aminoacylpyrrolidid, Aminoacylthiazolidid oder N-Dipeptidyl, O-Acyl Hydroxylamin ist. Derartige Inhibitoren haben sich als besonders wirksame DP IV-Inhibitoren herausgestellt. Als Beispiele derartiger Inhibitoren können z.B. Ile-Thia, Ile-Pyr, Val-Thia und Val-Pyr genannt werden.

Die Inhibitoren (Komponente C) können erfindungsgemäß auch in Salzform vorliegen, wobei organische Salze wie Acetate, Succinate, Tartrate oder Fumarate oder anorganische Säurereste wie Phosphate oder Sulfate bevorzugt werden. Besonders bevorzugt werden Fumarate.

Insbesondere werden Verbindungen bevorzugt, in denen A-B ein Dipeptid der Formel Ile-Pro oder Gly-Pro ist.

Die vorliegende Erfindung betrifft also neue Prodrug-Verbindungen von Inhibitoren der Serinpeptidase Dipeptidyl Peptidase IV, die zur Behandlung von verschiedenen Erkrankungen insbesondere von mit Diabetes mellitus im Zusammenhang stehenden Stoffwechselkrankungen eingesetzt werden können.

Ein weiterer Vorteil der erfindungsgemäßen Prodrug-Verbindungen besteht darin, daß der Wirkungseintritt und auch die Wirkungsdauer der DP IV-Inhibitoren durch geeignete Auswahl der Gruppen A-B zeitlich gesteuert werden kann. Insbesondere hängt die Freisetzung der Gruppen A-B aus den erfindungsgemäßen Prodrug-Verbindungen von der Natur des Aminosäurerestes von A ab: Bezüglich der Definition der Gruppe A wurde insbesondere folgende Reihenfolge der Freisetzungsgeschwindigkeit der Reste A-B aus den Prodrug-Verbindungen A-B-C durch DP IV gefunden: Ile<Val<Phe<Pro<Ala<Gly. Die Geschwindigkeitskonstanten der

entsprechenden DP IV-katalysierten Freisetzungen liegen zwischen 1 s^{-1} und 100 s^{-1} . Damit steht ein Mittel zur Verfügung, die DP IV-Inhibitoren zeitlich exakt definiert freizusetzen: Soll die Wirkung der Enzyme sofort, z.B. bei Aufnahme Glukosereicher Nahrung eintreten, so wird eine Verbindung A-B-C gewählt, die als Gruppe A z.B. die Aminosäure Gly aufweist; soll erst eine verzögerte Wirkung des Inhibitors eintreten, so kann als Gruppe A z.B. die Aminosäure Ile ausgewählt werden. DP IV-Inhibitoren können durch die erfindungsgemäßen Prodrug-Verbindungen also insbesondere nahezu verzögerungsfrei, z.B. nahezu gleichzeitig mit aufgenommenen Nahrungsmitteln durch die Dünndarmmucosa transportiert werden.

Stellt B eine Bindung dar, so ist es insbesondere eine Peptid-bindung; stellt B eine Aminosäure dar, so ist diese vorzugsweise über Peptidbindungen mit A und C verknüpft.

Bei der Analyse der Dosis-Wirkungs-Beziehungen des DP IV -Inhibitors Isoleucyl Thiazolidid als Modulator der Blut-glukosekonzentration im Säugetierorganismus kann ein Unterschied zwischen oraler und parenteraler Applikation des Wirkstoffes an Wistaratten festgestellt werden: Bei oraler Applikation wurde eine Sättigung der Aufnahme des Wirkstoffs (gemessen an der Inhibierung des Serumenzyms) beobachtet, während bei parenteraler Applikation des Inhibitors eine vollständige Hemmung des Enzyms beobachtet wurde. Das ist in Tabelle 1 beispielhaft belegt:

Tabelle 1: Restaktivität der DP IV gegenüber 0,4 mM des Substrates H-Gly-Pro-pNA bei 30°C, pH 7,6 und einer Ionenstärke von 0,125, nach i.v. und p.o. Gabe und in Abhängigkeit von der Dosis Isoleucyl Thiazolidid (Ile-Thia), bestimmt 30 min nach Applikation des Inhibitors.

Ile-Thia Dosis bei parenteraler Gabe	DP IV- Aktivität in %	Ile-Thia Dosis bei oraler Gabe	DP IV- Aktivität in %
0 mg	100	0 mg	100
0,02 mg	80	2,5 mg	52
0,2 mg	32	5,0 mg	40
2 mg	5	10 mg	28
20 mg	0	20 mg	29

Da auch im Darm Enzyme, insbesondere hohe Konzentrationen an DP IV, vorhanden sind, die die abspaltbaren Gruppen von Prodrugs abspalten und damit das Medikament freisetzen können, und ferner - wie bereits erwähnt - gefunden wurde, daß DP IV Inhibitoren quantitativ aus dem Magen-Darmtrakt resorbiert werden, war zu erwarten, daß der Einsatz von Prodrug-Verbindungen von DP IV-Inhibitoren keine Verbesserung dieser Situation bringen würde.

Es war daher ausgesprochen überraschend, daß gefunden wurde, daß die erfindungsgemäßen Prodrugs von DP IV-Inhibitoren gegenüber den korrespondierenden unmaskierten DP IV - Inhibitoren eine deutlich verstärkte Glukosetoleranz im Glukosetoleranztest bewirken. Dieses Verhalten war insofern besonders überraschend als die Prodrugs - wie vorstehend erwähnt -

bereits im Darm durch dort vorliegende Enzyme wie die Dipeptidylpeptidase gespalten werden können und somit genau wie die unmaskierten Inhibitoren nicht mehr für einen Transport an den Zielort zur Verfügung stehen sollten:

Sobald die Prodrug-Verbindungen durch im Darm vorliegende DP IV oder andere Enzyme gespalten werden, werden die erfindungsgemäßen Inhibitoren freigesetzt, wodurch es genau wie beim Einsatz von unmaskierten Inhibitoren zu einer Inhibierung der DP IV kommt. Folglich findet kein weiterer Abbau der Prodrug-Verbindungen durch DP IV mehr statt; alle noch unzersetzt vorliegenden oder zusätzlich zugeführten Prodrug-Verbindungen können ebenso wie überschüssige, das heißt nicht an DP IV gebundene unmaskierte Inhibitoren unzersetzt aus dem Magen-Darm-Trakt in den vaskulären Bereich eines Körpers überreten. Dort können sie dann, wie vorstehend erwähnt, je nach individuellem Bedarf als DP IV Inhibitoren eingesetzt werden. Doch auch die im Darm an DP IV gebundenen Inhibitoren werden nach einer gewissen Zeit wieder freigesetzt und treten in den vaskulären Bereich ein.

Mit Hilfe der erfindungsgemäßen Prodrug-Verbindungen kann also auch eine erwünschte Wirkungsverstärkung *in vivo* erreicht werden.

Ferner kann auch der Freisetzungsort und Wirkungsort der DP IV-Inhibitoren durch die Art der Reste A-B gesteuert werden:

Im Blut von Säugern liegen neben der Dipeptidyl Peptidase IV verschiedene andere Aminopeptidasen wie z. B. Pyroglutamyl Aminopeptidase und Prolyl Aminopeptidase vor. Durch geeignete Auswahl der Reste A-B kann erfindungsgemäß festgelegt werden,

durch welche Aminopeptidase der DP IV-Inhibitor freigesetzt werden soll und somit bestimmt werden, wo die Wirkung des Inhibitors eintreten soll. Die erfindungsgemäßen Prodrug-Verbindungen oder entsprechende pharmazeutische Zusammensetzungen können also auch zur zell-, gewebs- oder organspezifischen Inhibition von DP IV eingesetzt werden. Die Gruppen A-B können auch so ausgewählt werden, daß nur solche Enzyme angesprochen werden, die nur vaskulär präsent sind und die die Inhibitoren mit ausreichend hoher Geschwindigkeit freisetzen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß durch die erfindungsgemäßen Prodrug-Verbindungen von DP IV-Inhibitoren in völlig überraschender Weise:

1. Eine erhöhte Wirkung der Inhibitoren erreicht werden kann;
2. Die Freisetzung der Inhibitoren je nach Bedarf der Patienten erfolgen kann;
3. Die Freisetzung der Inhibitoren aus den Prodrug-Verbindungen zeitlich gesteuert erfolgen kann;
4. Die Freisetzung der Inhibitoren aus den Prodrug-Verbindungen bezüglich des Freisetzungsorts gesteuert werden kann; und
5. Ein Depot von DP IV-Inhibitoren bereitgestellt werden kann.

Erfindungsgemäß werden außerdem pharmazeutische Zusammensetzungen insbesondere zur oralen Verabreichung bereitgestellt, die dadurch gekennzeichnet sind, daß sie mindestens eine erfindungsgemäße Prodrug-Verbindung gegebenenfalls in Kombination mit üblichen Trägern oder Hilfsstoffen enthält.

Die erfindungsgemäßen Prodrug-Verbindungen oder sie enthaltende pharmazeutischen Zusammensetzungen können zur Behandlung oder Prophylaxe von Erkrankungen von Säugern eingesetzt werden, die durch Modulation der DP IV-Aktivität eines Säugers behandelt werden können, wie z.B. von Stoffwechselerkrankungen von Menschen.

Insbesondere können sie zur Behandlung von beeinträchtigter Glukosetoleranz, Glukosurie, Hyperlipidämie, metabolischen Azidosen, Diabetes mellitus, diabetischer Neuropathie und Nephropathie sowie von durch Diabetes mellitus verursachten Folgeerkrankungen von Säugern eingesetzt werden.

Beispiele

1. Synthese von erfindungsgemäßen Prodrugverbindungen

1.1. Synthese von H-Pro-Ile-Thia / HCl

6,5 mM Boc-Pro-Ile-OH (ein Equivalent = 1 eq.) werden mit N-Hydroxybenzotriazol (1 eq.) und Thiazolidin (1 eq.) in 30 ml Dichlormethan (DCM) suspendiert. Bei -10 °C wird unter Rühren die equivalente Menge einer 1 M Dicyclohexylcarbodiimid-Lösung zugetropft. Man lässt bei -10 °C und über Nacht bei Raumtemperatur (RT) röhren. Zur Aufarbeitung wird gründlich vom ausgefallenen Dicyclohexylharnstoff abfiltriert, DCM im Vakuum abgezogen und der erhaltene Rückstand in Essigester aufgenommen. Die Essigesterlösung wird mindestens dreimal mit gesättigter Bicarbonat-Lösung, einmal mit gesättigter NaCl-Lösung, dreimal mit verdünnter KHSO₄-Lösung und nochmals mit NaCl-Lösung gewaschen. Die Essigesterphase wird über Na₂SO₄ getrocknet, einro-

tiert und das verbleibende Rohprodukt mit Essigester/Pentan umkristallisiert. Boc-Pro-Ile-Thia kristallisiert nach 1-2 Tagen bei 4°C (Ausbeute 80%). Boc-Pro-Ile-Thia wird mit 1,1 N HCl/Eisessig-Lösung (3 ml pro mmol Peptid) versetzt. Man lässt zwei Stunden bei RT röhren, versetzt mit absolutem Ether und dampft überschüssige Abspaltungslösung am Rotationsverdampfer ab. Das Hydrochlorid kristallisiert quantitativ unter absolutem Ether über Nacht bei 4°C. Man saugt die Kristalle schnell unter mehrfachem Waschen mit absolutem Ether ab und bewahrt das Produkt im Eksikator über KOH oder Phosphorpentoxid auf.

1.2. Synthese von H-Gly-Pro-Ile-Thia / HCl

Boc-Gly-OH (1 eq.) wird in 20 ml Tetrahydrofuran (THF) gelöst, auf -10 °C gekühlt und unter Röhren nacheinander mit N-Methylmorpholin (1 eq.) und Chlorameisensäureisobutylester (1 eq.) versetzt. Man lässt etwa 20 min aktivieren. Parallel dazu wird Pro-Ile-Thia x HCl (1 eq.) in 10 ml THF suspendiert auf -10 °C temperiert und mit N-Methylmorpholin (1 eq.) zur Neutralisation versetzt. Nach beendeter Aktivierungszeit werden beide Lösungen miteinander vermischt, nach ein bis zwei Stunden auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Danach wird das Reaktionsgemisch mit wenig Wasser versetzt und THF im Vakuum abdestilliert. Der verbleibende Rückstand wird in Essigester aufgenommen und mindestens dreimal mit gesättigter Natrium Bicarbonatlösung, einmal mit gesättigter NaCl-Lösung, dreimal mit verdünnter KHSO₄ und nochmals mit NaCl-Lösung gewaschen. Man trocknet die Essigesterphase über Na₂SO₄, rotiert ein und kristallisiert das Product Boc-Gly-Pro-Ile-Thiazolidid mit Essigester/Pentan um (Ausbeute 85 %). Die Boc-Abspaltung wird

analog der Synthese von H-Pro-Ile-Thia / HCl durchgeführt
(Ausbeute > 95 %).

Tabelle 2: Analysedaten von Prodrugs von Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV

Substanz	MG bc-rechnet* [g/mol]	MG gefundenen M+H ⁺	CE Reinheit Retentionszeit (Rt)	HPLC Reinheit Rt	Schmelzpunkt °C
pGlu-Ile-Thia*HCl	349,84	314,8	4,2 min	10,4min	30-40
Pro-Ile-Thia*HCl	335,90	300,8	4,5 min	10,05 min	45-69
Gly-Pro-Ile-Thia*HCl	392,94	357,8	4,6 min	8,8 min	111-121
Ile-Pro-Ile-Thia*HCl	449,05	413,6	5,6 min	10,0 min	98-107
Pro-Pro-Ile-Thia*HCl	433,01	397,6	5,3 min	11,35 min	101-118

Bedingungen für die Analytik:

HPLC Säule: LiChrospher 250-4, 100 RP-18,5µm, Temperatur 25°C

Eluent: 30% ACN, 0,1% TFA, isokratisch, Flussgeschwindigkeit 0,5ml/min

Detektionswellenlänge: 210nm

CE Kapillare: 30cmx50µm fused silica, Temperatur 25°C

Detektionswellenlänge: 200nm

Injektion: 5sec, 50mbar

Trennung: 0,1 M Na-Phosphatpuffer, pH 2,5; Dauer 7min bei 12kV

2. Affinität und Transport verschiedener Peptide, DP IV-Inhibitoren und Prodrugs zum Peptidtransporter PepT1

Die Affinität verschiedener Peptide, DP IV-Inhibitoren und Prodrugs von Inhibitoren der DP IV zum Peptidtransporter PepT1 wurde mittels Verdrängung des radioaktiv markierten Substrates D-Phe-Ala analysiert [AMASHEH, S., WENZEL, U., WEBER, W.M., CLAUSS, W., DANIEL, H., Electrophysiological analysis of the

function of the mammalian renal peptide transporter expressed in *Xenopus laevis* oocytes. J. Physiol. 504, 169-174 (1997)]. Dabei zeigt sich, daß beispielsweise das Tetrapeptidderivat Ile-Pro-Ile-Thia vergleichbar bzw. besser als ausgewählte Aminosäure Derivate an das Transporterprotein PepT1 gebunden und im Vergleich zu ausgewählten Aminosäure- bzw. Peptid-analoga ähnlich oder besser transportiert wird (Tabelle 3).

Tabelle 3: Transporteigenschaften verschiedener Aminosäure- und Peptidderivate am humanen Peptidtransporter PepT1

Aminosäure- bzw. Peptidderivat	Elektrophys. Transportanalyse (hPEPT1 in Oocyten expr.), Flux % zur Kontr. Gly-Gln (100 %)	Bindungskonstante mM zu PepT1, relativ zu D-Phe-Ala
Lys-Phe	95	0,08
Lys-Phe-Pro	10	0,19
Asn-Pyr	30	3,01
Asn-Thia	83	0,50
His-Pyr	7	5,34
His-Thia	12	0,57
Ile-Pyr	14	2,66
Ile-Thia	25	0,98
Ile-Pro-Ile-Thia	44	0,61

Freisetzung des aktiven DP IV-Inhibitors Ile-Thia aus erfindungsgemäßen Prodrugs in humanem Vollblut

Gemäß einer Ausführungsform von erfindungsgemäßen Prodrugs von DP IV-Inhibitoren ist auch eine retardierte Freisetzung von DP IV-Inhibitoren im Zielkompartiment, z.B. im Blutkreislauf möglich.

In Abbildung 1 ist die zeitabhängig differenziert verlaufende Inhibierung von humaner Blut-DP IV durch Freisetzung des Inhibitors Isoleucyl Thiazolidid aus erfindungsgemäßen Prodrug-Verbindungen exemplarisch dargestellt. Die Freisetzung des maskierten DP IV-Inhibitors im Blut kann im Falle der ausge-

wählten Beispiele (Pro-Pro-Ile-Thia = PPIThia, Gly-Pro-Ile-Thia = GPIThia) durch DP IV selbst bzw. durch Aminopeptidasen (pGlu-Ile-Thia = pEIThia, Pro-Ile-Thia = PIThia) erfolgen (Abbildung 1). Die Freisetzung des DP IV-Inhibitors Isoleucyl Thiazolidid aus den Prodrug-Verbindungen erfolgt im Blut bei gleicher eingesetzter Konzentration der Prodrugverbindung mit differenzierter Effizienz, wobei sich für Pro-Pro-Ile-Thia (PPI Thia) und pGlu-Ile-Thia (pEI Thia) eine im Vergleich zu Pro-Ile-Thia (PI Thia) und Gly-Pro-Ile-Thia (GPI thia) stärker retardierte Wirkstoff-Freisetzung zeigt.

3. Verstärkung der über DP IV-Inhibitoren vermittelten Glukosetoleranz durch den Einsatz von Prodrugs

Durch Überführung des aktiven Wirkstoffes Isoleucyl Thiazolidid in erfundungsgemäße Prodrugs beobachtet man nach oraler Applikation bei der Wistar-Ratte ein deutlich verbessertes Wirkprofil (Abbildung 2). Die erwünschte Reduktion des Blutglukosespiegels durch DP IV-Inhibitoren im untersuchten Zeitintervall wird durch Einsatz der Prodrug-Verbindungen erfundungsgemäß gegenüber dem unmaskierten Wirkstoff Ile-Thia etwa um 30 % verstärkt (Tabelle 4):

Tabelle 4: Abhängigkeit des Blutglukosespiegels innerhalb von 100 Minuten nach *p.o.* Glukosestimulierung und *p.o.* Verabreichung von Ile-Thia bzw. erfindungsgemässen Prodrugs an Wistar-Ratten (Dosis: 2,5 μ M Wirkstoff/300 g Tier)

Wirkstoff / Prodrug	% Glukosespiegel
Kontrolle	100
Ile-Thia	74,4
Gly-Pro-Ile-Thia	57,1
Pro-Ile-Thia	56,1

PATENTANSPRÜCHE

1. Prodrug-Verbindungen von Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV (DP IV), welche Prodrug-Verbindungen die allgemeine Formel A-B-C aufweisen, wobei

A eine Aminosäure

B die chemische Bindung zwischen A und C oder eine Aminosäure, und

C ein stabiler Inhibitor von DP IV ist.

2. Prodrug-Verbindungen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß B Prolin, Hydroxyprolin, Thiazolidincarbonsäure, Dehydroprolin, Pipecolinsäure, Azetidincarbonsäure oder Aziridincarbonsäure ist.

3. Prodrug-Verbindungen nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß B Prolin, Hydroxyprolin ist.

4. Prodrug-Verbindungen nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß C ein Aminoacylpyrrolidid, Aminoacylthiazolidid oder N-Dipeptidyl, O-Acyl Hydroxylamin ist.

5. Prodrug-Verbindungen nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Inhibitoren in Salzform vorliegen.

6. Prodrug-Verbindungen nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß A-B ein Dipeptid der Formel Ile-Pro oder Gly-Pro ist.

7. Pharmazeutische Zusammensetzung insbesondere zur oralen Verabreichung, dadurch gekennzeichnet, daß sie mindestens eine Prodrug-Verbindung nach einem der vorstehenden Ansprüche gegebenenfalls in Kombination mit üblichen Trägern oder Hilfsstoffen enthält.

8. Verwendung von Prodrug-Verbindungen oder pharmazeutischen Zusammensetzungen nach einem der vorstehenden Ansprüche zur Herstellung eines Medikaments zur zeitlich gesteuerten *in vivo* Inhibierung von DP IV.

9. Verwendung von Prodrug-Verbindungen oder pharmazeutischen Zusammensetzungen nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur zell-, gewebs- oder organspezifischen Inhibierung von DP IV.

10. Verwendung von Prodrug-Verbindungen oder pharmazeutischen Zusammensetzungen nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Behandlung von Erkrankungen von Säugern, die durch Modulation der DP IV-Aktivität eines Säugers behandelt werden können.

11. Verwendung nach Anspruch 9 zur Behandlung von Stoffwechselkrankungen von Menschen.

12. Verwendung nach Anspruch 9 zur Behandlung von beeinträchtigter Glukosetoleranz, Glukosurie, Hyperlipidämie, metabolischen Azidosen, Diabetes mellitus, diabetischer Neuropathie und Nephropathie sowie von durch Diabetes mellitus verursachten Folgeerkrankungen von Säugern.

Abbildung 1 : Inhibierung der DP IV in humanem Vollblut durch Freisetzung des DP IV-Inhibitors Ile-Thia aus erfundungsgemäßen Prodrugs

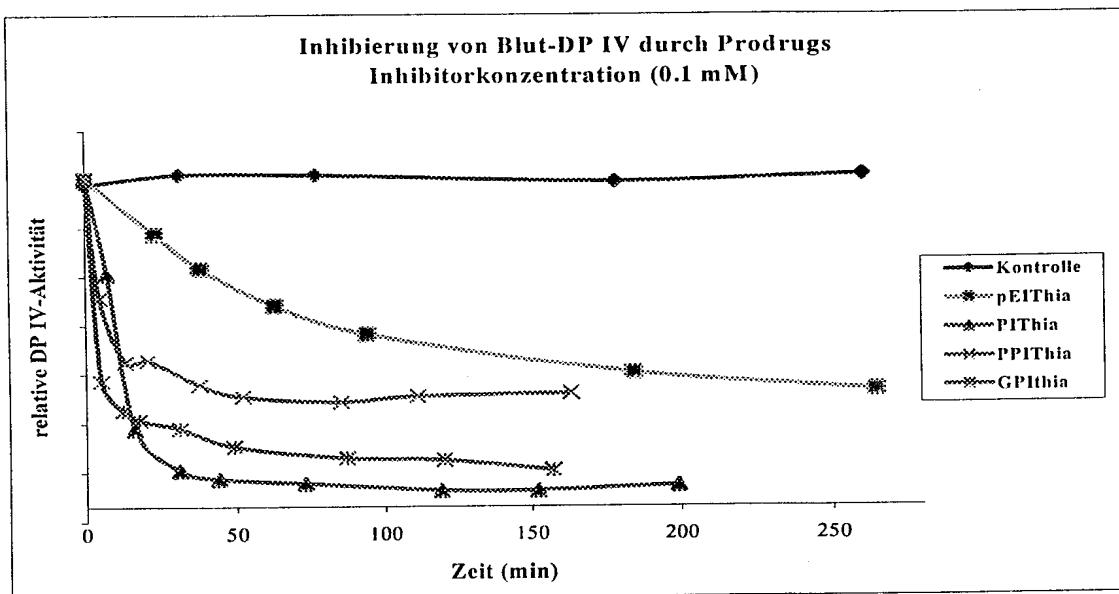
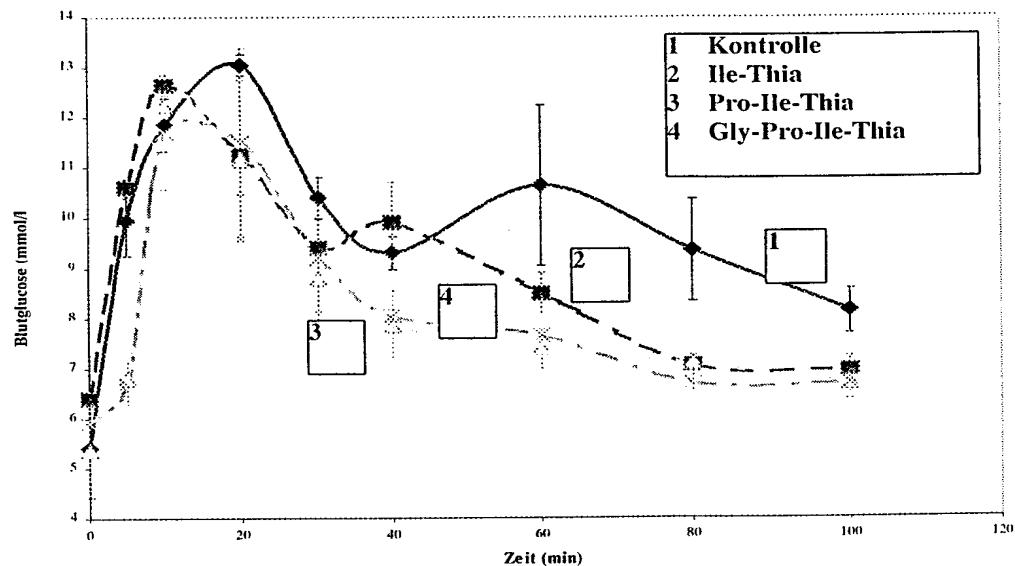


Abbildung 2 : Glukosespiegel in Serum nach oraler Glukosestimulierung und
p.o. Prodrug-Gabe an die Wistarrratte



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 99/04382

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER	IPC 6 C07K5/078 C07K5/083 C07K5/097 A61K38/05 A61K38/06
-------------------------------------	---

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 98 22494 A (SCOTT WILLIAM LEONARD ; THORSETT EUGENE D (US); AUDIA JAMES E (US);) 28 May 1998 (1998-05-28) claims; example 344 ----	1,4
X	WO 95 29691 A (GEORGIA TECH RES INST) 9 November 1995 (1995-11-09) page 3, line 9 - line 25 page 13, line 30 -page 14, line 7 ----	1,4,7-11
A	DE 196 16 486 A (HANS KNOELL INST FUER NATURSTO) 30 October 1997 (1997-10-30) the whole document -----	1-12



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
5 October 1999	12/10/1999
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Fuhr, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 99/04382**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Observation: Although Claims Nos. 9-12 relate to a method for treatment of the human/animal body, the search was carried out and was based on the cited effects of the compound/composition.
2. Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
See supplemental sheet Additional Matter PCT/ISA/210
3. Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 99/04382

In view of the wording of the present patent claims which makes it more difficult if not altogether impossible to determine the scope for which protection is sought, the present patent application does not, to a certain extent, comply with the requirements of PCT Article 6 (cf. also PCT Rule 6.1(a)) thus making a meaningful search unfeasible. The concept 'unstable inhibitor' is especially unclear. This concept is not defined in the description even though the difference between stable and unstable inhibitors appears to be expressly required under the terms of the application (for example over the plasma half life).

For this reason, the search was directed at the sections of the patent claims which appear to be supported and disclosed in the above-mentioned sense, namely at the sections pertaining to the compounds as cited in the examples i.e. including closely related homogeneous compounds.

The applicant is therefore advised that patent claims or sections of patent claims laid to inventions for which no international search report was drafted cannot normally be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). Similar to the authority entrusted with the task of carrying out the international preliminary examination, the EPO also does not generally carry out a preliminary examination of subject matter for which no search has been conducted. This is also valid in the case when the patent claims have been amended after receipt of the international search report (PCT Article 19), or in the case when the applicant submits new patent claims pursuant to the procedure in accordance with PCT Chapter II.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/04382

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)			Publication date
WO 9822494	A 28-05-1998	AU 5356198 A	10-06-1998	EP 0942924 A	22-09-1999
		HR 970627 A	31-08-1998	NO 992368 A	21-06-1999
WO 9529691	A 09-11-1995	US 5543396 A	06-08-1996		
DE 19616486	A 30-10-1997	AU 3023397 A	19-11-1997	CA 2252576 A	06-11-1997
		CN 1216468 A	12-05-1999	WO 9740832 A	06-11-1997
		EP 0896538 A	17-02-1999		

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 99/04382

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 C07K5/078 C07K5/083 C07K5/097 A61K38/05 A61K38/06

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 6 C07K A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie ^o	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 98 22494 A (SCOTT WILLIAM LEONARD ; THORSETT EUGENE D (US); AUDIA JAMES E (US);) 28. Mai 1998 (1998-05-28) Ansprüche; Beispiel 344 ---	1, 4
X	WO 95 29691 A (GEORGIA TECH RES INST) 9. November 1995 (1995-11-09) Seite 3, Zeile 9 – Zeile 25 Seite 13, Zeile 30 – Seite 14, Zeile 7 ---	1, 4, 7-11
A	DE 196 16 486 A (HANS KNOELL INST FUER NATURSTO) 30. Oktober 1997 (1997-10-30) das ganze Dokument -----	1-12

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

^o Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

5. Oktober 1999

12/10/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Fuhr, C

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

nationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/04382

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr. – weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Bemerkung: Obwohl die Ansprüche 9–12 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. Ansprüche Nr. – weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
siehe Zusatzblatt WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210
3. Ansprüche Nr. – weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
 Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.2

Angesichts des Wortlauts der geltenden Patentansprüche, welche es damit erschwert wenn nicht gar unmöglich macht, den durch sie erstrebten Schutzmfang zu bestimmen, entspricht die vorliegende Patentanmeldung den Anforderungen des Artikels 6 PCT (vgl. auch Regel 6.1(a) PCT) in einem Maße nicht, daß eine sinnvolle Recherche undurchführbar ist. Besonders unklar ist hierbei der Begriff 'stabiler Inhibitor'. Dieser Begriff wird in der Beschreibung nicht definiert, obwohl die Abgrenzung von stabilen und instabilen Inhibitoren im Sinne der Anmeldung (beispielsweise über die Plasmahalbwertszeit) dringend erforderlich erscheint. Daher wurde die Recherche auf die Teile der Patentansprüche gerichtet, welche im o.a. Sinne als gestützt und offenbart erscheinen, nämlich die Teile betreffend, die Verbindungen, wie sie in den Ausführungsbeispielen angegeben sind, einschließlich nahverwandter homogener Verbindungen.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentanprüche vorlegt.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/04382

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9822494 A	28-05-1998	AU	5356198 A	10-06-1998
		EP	0942924 A	22-09-1999
		HR	970627 A	31-08-1998
		NO	992368 A	21-06-1999
-----	-----	-----	-----	-----
WO 9529691 A	09-11-1995	US	5543396 A	06-08-1996
-----	-----	-----	-----	-----
DE 19616486 A	30-10-1997	AU	3023397 A	19-11-1997
		CA	2252576 A	06-11-1997
		CN	1216468 A	12-05-1999
		WO	9740832 A	06-11-1997
		EP	0896538 A	17-02-1999
-----	-----	-----	-----	-----